

CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DEL PRIMER ALMIDÓN NATURAL DE YUCA CEROSO (LIBRE DE AMILOSA) DESCUBIERTO EN CIAT.

Sánchez Teresa¹, Dufour Dominique^{1&2}, Morante Nelson¹, Ceballos Hernán^{1&3}

1: (CIAT) Centro Internacional de Agricultura tropical, Cali, Colombia.

2: (CIRAD) Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement, Montpellier, Francia.

3: Universidad Nacional de Colombia, Palmira, Colombia.

Palabras claves: yuca, almidón ceroso, microscopia, RVA, DSC

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue analizar las propiedades funcionales de un almidón de yuca que presentaba características de un almidón libre de amilosa descubierto en CIAT en 2006, comparándolo con las propiedades funcionales de dos almidones de yuca con características promedio provenientes de la colección mundial de CIAT (6500 clones).

La coloración café-rojiza de las raíces al teñirse con una solución de yodo sugirió que el almidón del clon AM206-5 era bajo en contenido de amilosa. El almidón de este clon se extrajo para una caracterización más profunda. En microscopia óptica se confirmó la diferencia de tinción entre los almidones. En microscopia electrónica de barrido no se observó diferencias con los almidones de referencia. La medida del contenido de amilosa por el método colorimétrico y por calorimetría diferencial de barrido (DSC) mostraron valores muy bajos por el primer método (3.4%) e ausencia por el segundo.

El comportamiento de los geles realizados a partir de suspensión de 5% de almidón AM206-5; MCOL2208 y MPER247 se determinó en un rápido viscosímetro (RVA) mostrando valores de temperatura de engrudo (Pasting temperature) respectivamente de 68.3; 65.4; 67.5°C. La viscosidad máxima (Vmax), inestabilidad del gel (Breakdown) y la reorganización (setback) fueron mayores para el almidón ceroso (890; 491; -400 centipoises) comparados con los almidones de los 2 clones de yuca (577; 746; 249; 290; -161; -166 centipoises) respectivamente. La solubilidad del almidón ceroso fue menor respecto a las referencias, mientras que el índice de hinchamiento y el volumen de la fracción dispersada fueron mayores para el clon ceroso. El estudio comprobó el descubrimiento del primer clon natural de yuca ceroso.

INTRODUCCIÓN

Moorthy (1) menciona que las fuentes de almidón pueden encontrarse en cereales, palmeras, frutas, vegetales y algunas raíces y tubérculos; sin embargo la extracción comercial del almidón solo se realiza en algunos cultivos. Las fuentes de almidón de plantas perennantes más importantes son la papa, la yuca, el camote, canna y arrurruz. En las raíces de yuca del 73.7 al 84.9% del peso seco es almidón (2). Han sido publicadas una extensa revisión de las propiedades del almidón de yuca (1). El almidón de yuca es de fácil extracción porque las raíces contienen bajos niveles de proteína y de grasa, de color blanco y de sabor neutro lo que es muy deseable para la preparación de los productos alimenticios. Los gránulos son generalmente redondos (ovalados), con un lado truncado, y su tamaño oscila entre 5 y 40 μm .

El contenido de amilosa ha sido reportado con rangos de 17.9 a 23.7% (3); 17 a 25% (4), 18 a 25% (1), o 13.6 a 23.8% (2). El

CIAT ha realizado cuantificación de miles de muestras de almidón de clones nuevos y clones de la colección mundial del banco de germoplasma (5). Hay una influencia genética clara sobre el contenido de amilosa en el almidón, y ni la edad de la planta, ni los factores ambientales parecen jugar un papel importante en la determinación de este. Los rangos en el poder de hinchamiento están entre 25 y 30 mL/g de almidón y su digestibilidad es buena. La difracción de rayos X del almidón de yuca sigue un patrón A y C (1,2). El almidón de yuca es uno de los menos resistentes al ataque enzimático entre los almidones de raíces, con hidrólisis similares a las del almidón normal de maíz (2).

El almidón ceroso compuesto exclusivamente de amilopectina, tiene ventajas comerciales por sus propiedades funcionales específicas (6). El almidón ceroso de maíz muestra propiedades similares a las del almidón de yuca normal (7).

El objetivo de este trabajo es demostrar que el almidón del clon de Yuca AM206-5, descubierto en CIAT es de tipo ceroso, y de estudiar su comportamiento reológico y algunas de sus propiedades físicoquímicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Se obtuvieron trozos pequeños de las raíces peladas de plantas de los clones AM 206-5, MCOL 2208 y MPER 247. Algunos trozos se liofilizaron durante 24 horas a -30 °C y luego se molieron para obtener la harina.

Para la obtención del almidón, se homogenizaron trozos de las raíces con agua en una licuadora, la suspensión fue tamizada a través de un filtro de 100 μm . La lechada fue sedimentada y el supernadante (almidón) decantado y secado en un horno con ventilación forzada a 40°C.

Métodos

Prueba de yodo: Para determinar la presencia ó ausencia de amilosa, se pulverizó una solución de yoduro de potasio (2 %) sobre rodajas de cada raíz.

Materia seca: determinada después del secado de trozos de las raíces a 60°C durante 48 horas (8).

Cenizas: Se incineraron trozos a 550°C durante 3 horas para determinar el contenido de cenizas (9).

Fibra cruda: se determinó por la pérdida de peso sobre la ignición de los residuos secos de una muestra de harina, después de la digestión con ácido y con base (10).

Azúcares totales y reductores se determinaron de acuerdo a Cronin et al. (11).

Almidón: determinado después de hidrolizar la muestra con α -amilasa termoestable y con amiloglucosidasa (12).

Microscopia óptica Se tiñó una pequeña muestra de almidón con una solución de yodo al 0.2% y se tomaron fotografías.

Microscopia electrónica de barrido, (SEM): Gránulos de almidón deshidratado fueron fotografiados después de haber recubierto la muestra con una mezcla de oro: aluminio.

Claridad de los geles: La metodología sugerida por Craig *et al.* (13) fue utilizada.

Amilosa: La determinación colorimétrica se realizó utilizando la norma ISO 6647(14). La calorimetría diferencial de barrido (DSC) se realizó usando un Perkin Elmer DSC (15).

Temperatura de gelatinización: fue determinada del termograma DSC.

Rapido viscoanalizador (RVA): Las propiedades funcionales de la pasta se estudiaron utilizando una suspensión al 5% (b.s.) en un RVA-4, con programación de temperatura (50 °C hasta 90 °C a 6°C/min mantener durante 5 minutos, enfriar hasta 50°C a 6°C/min). Se determinó la temperatura de engrudo (TE), viscosidad máxima (VM), viscosidad de la pasta caliente (VPC) y viscosidad de la pasta fría (VPF). Se calcularon tres parámetros:

Inestabilidad del gel : VM-VPT

Reorganización: VPC-VM

Consistencia: VPF-VPC.

La solubilidad, el índice de hinchamiento, y el volumen de la fracción dispersa fueron medidos utilizando una suspensión de almidón al 1.5%(b.s.), la pasta se preparo en un RVA-4, calentando desde 35°C hasta 75°C a 6 °C/min, manteniendo esta temperatura durante 2.5 minutos. La pasta fue inmediatamente centrifugada a 6000g durante 5 minutos a 25 °C. El supernadante y el sobrenadante fueron pesados (PH_{su}, PH_{so}), secados a 100 °C y de nuevo pesados (PS_{su}, PS_{so}). Se calcularon tres parámetros:

Solubilidad (% bs) = 100PH_{su}/0.42

Poder de Hinchamiento = (PH_{so} - PS_{so})/PS_{so}

Volumen de la fracción dispersa (Φ) = (27.86 - (PH_{su} - PH_{so}))/27.86

El factor 27.86 es calculado como volumen total de la pasta.

RESULTADOS Y DISCUSION

Las rodajas de las raíces de la variedad AM 206-5 cuando se tiñeron con la solución de yodo mostraron una coloración café-rojiza, coloración típica de un almidón libre de amilosa; comparada con la tinción azul oscura que aparece en rodajas de yuca normal. (Figura 1)



Figura 1. Diferencias en la tinción con solución de yodo de un clon normal y el clon AM 206-5

En la tabla 1 se presentan los resultados del análisis proximal de las harinas. El contenido de materia seca del clon AM 206-5 fue ligeramente más bajo que los clones de referencia, mientras que el contenido de cenizas fue mayor.

En la figura 2 se muestra el contraste de las fotos de microscopia óptica del almidón del clon AM 206-5 y un clon normal de yuca teñidos con yodo al 2%, y se observa una clara diferencia entre los dos genotipos.

En la morfología y el tamaño de los gránulos no presentan diferencias los genotipos, como se puede observar en la fotografía de microscopia de barrido (Figura 3).

Tabla 1. Análisis Proximal % (g/100g bs) de tres clones de yuca

Parámetros ^a	AM 206-5 ^b	MCOL 2208	MPER 247
Materia Seca (%)	31.5 (1.3)	34.8	35.7
Cenizas (%)	3.0 (0.2)	1.6	2.2
Fibra Cruda (%)	4.6 (0.7)	2.6	3.2
Azúcares Totales (%)	1.6 (1.1)	2.9	3.6
Azúcares Reductores (%)	0.8 (0.8)	0.9	1.3
Almidón (%)	86 (3.9)	88	86

a) en base seca (b.s). b) La desviación estándar, mostrada entre paréntesis, esta calculada en base a análisis independientes de 5 plantas diferentes del clon AM206-5.

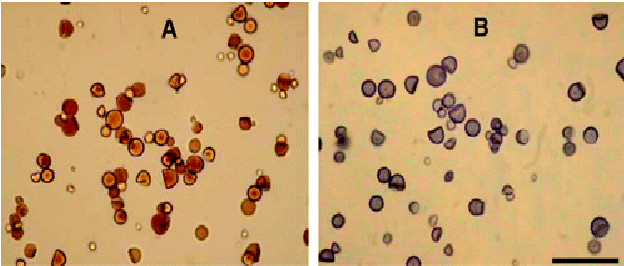


Figura 2. Microscopia óptica de la tinción de gránulos de almidón con yodo de A. Clon ceroso B. Clon normal de yuca

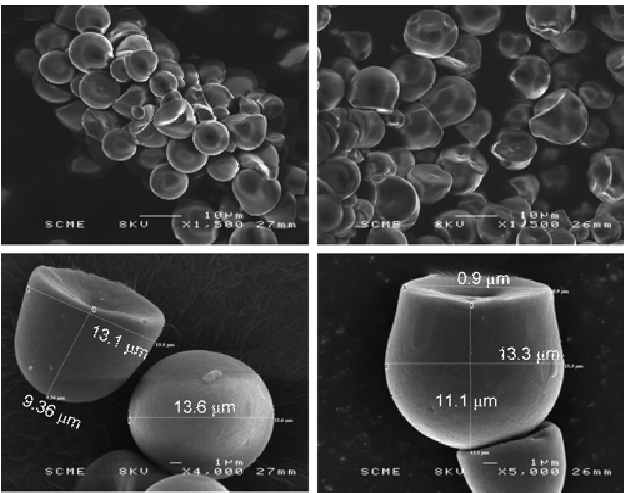


Figura 3. Microscopia electrónica de barrido de los gránulos del clon AM 206-5 (izquierda) y de un clon normal de yuca (derecha).

En la tabla 2 se presentan las propiedades fisicoquímicas de los almidones. La claridad de los geles fue muy similar para los 3 clones. El contenido de amilosa obtenido por colorimetría fue de 3.4 % para el clon AM 206-5, mientras que para los otros dos clones fue de un 20 % en promedio; usando el DSC el contenido de amilosa presento ausencia en el clon AM206-5. La detección de una pequeña cantidad en el método colorimétrico puede ser debido a la impureza de alguno de los estándares utilizados en el análisis.

Tabla 2. Propiedades fisicoquímicas de los almidones de los tres clones de yuca analizados

Parámetros ^a	AM 206-5 ^b	MCOL 2208	MPER 247
Claridad de la pasta (%)	57.6 (1.6)	56.2 (0.3)	50.3 (0.6)
Contenido de amilosa a colorimetria (%)	3.4 (0.2)	20.4(0.3)	19.7 (0.4)
Contenido de amilosa DSC (%)	0.0 (0.0)	19.2 (0.0)	9.0 (0.5)
Temperatura de de Gelatinización (°C)	63.1 (0.7)	60.4 (0.1)	61.8 (0.1)

Las propiedades funcionales de los almidones son presentadas en la Tabla 3. El clon AM 206-5 presento el valor mayor en la viscosidad máxima (890 centipoises) en comparación con los otros dos clones (577-546 centipoises). Los valores de inestabilidad de los geles y reorganización fueron notablemente diferentes en el clon AM 206-5 comparado con los otros dos clones, sugiriendo una tolerancia reducida a la fuerza de cizallamiento en el clon ceroso, mientras que el valor de la consistencia no presento diferencias significativas

Tabla 3. Comportamiento de las pastas de almidón de los Clones estudiados

Parámetros ^a	AM 206-5 ^b	MCOL 2208	MPER 247
Temperatura de empastamiento (°C)	68.3 (0.8)	65.4 (0.4)	67.5 (0.2)
Viscosidad Máxima (cP)	890 (38)	577 (19)	746 (20)
Viscosidad de la pasta caliente (cP)	399 (18)	329 (12)	456 (16))
Viscosidad de la pasta fría (cP)	490 (17)	416 (16)	580 (18)
Inestabilidad del gel (cP)	491 (31)	249 (7)	290 (27)
Reorganización (cP)	-400 (32)	-161 (8)	-166 (24)
Consistencia (cP)	91 (3)	88 (6)	124 (6)

En los viscoamilogramas (Fig 4) los tres clones estudiados presentan un típico comportamiento de un gel de almidón no resistente a las temperaturas altas y sensible a las fuerzas de cizallamiento.

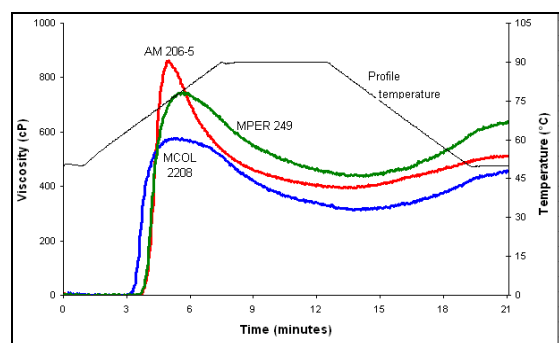


Figure 4. Amilogramas de tres genotipos obtenidos usando un rápido viscoanalizador (RVA)

La solubilidad, el índice de hinchamiento y el volumen de la fracción dispersada del almidón AM 206-5 mostraron resultados contrastantes comparados con los de yuca normal (Tabla 4). La solubilidad del almidón de AM 206-5 fue cerca de la mitad del valor observado para los otros clones, esto puede ser debido a que la amilosa es más soluble que la amilopectina, demostrando nuevamente que el almidón del clon AM 206-5 tiene

considerablemente menos cantidad de amilosa que los dos clones normales. El índice de hinchamiento en el clon AM 206-5 fue considerablemente mas alto que los otros dos clones, y el volumen de la fracción dispersada fue un poco mayor que el de los otros dos clones estudiados. El almidón ceroso de yuca es susceptible de absorber 2 veces más agua que un almidón de yuca normal (56 y 31 g de agua por g de almidón) respectivamente.

Tabla 4. Valores de solubilidad, índice de hinchamiento del clon ceroso y los clones normales

Clon	Solubilidad (% bs)	Índice de hinchamiento (g·g ⁻¹)	Volumen fracción dispersada (Φ)
AM 206-5	6.0 (0.5)	55.7 (2.3)	0.50 (0.03)
MCOL 2208	14.1 (0.6)	32.3 (0.7)	0.45 (0.00)
MPER 247	13.4 (0.4)	30.8 (0.4)	0.41 (0.01)

CONCLUSIONES

Todos los análisis realizados en este estudio comprueban que el clon de yuca AM 206-5 no contiene amilosa (almidón ceroso). Este es el primer reporte de un clon de yuca natural (no modificado genéticamente) con estas propiedades.

Las diferencias en la coloración de las raíces al teñirse con la solución de yodo fueron las primeras indicaciones de que el clon era libre de amilosa. Las diferencias presentadas en las propiedades funcionales entre los clones concuerdan con las características que poseen los almidones libres de amilosa (alta viscosidad, alto índice de hinchamiento, y baja solubilidad). La cuantificación del contenido de amilosa por los dos métodos concluye que el almidón del clon AM 206-5 tiene niveles muy bajos o ausencia de amilosa. El tamaño y la forma de los gránulos no presentan diferencias entre el clon AM 206-5 y los clones normales de yuca.

Las propiedades características del almidón ceroso pueden abrir la posibilidad de usos comerciales en aplicaciones novedosas debido a la ausencia de amilosa, la cual participa en la reorganización de los geles al enfriamiento, produciendo sinéresis e inestabilidad del los productos. El uso de los almidones cerosos crece continuamente en la industria alimenticia debido especialmente al incremento en la demanda de comidas rápidas y son usados como estabilizadores y espesantes para productos alimenticios, especialmente aquellos que son sometidos a grandes cambios de temperatura durante el procesamiento y el almacenamiento. Los geles de almidón ceroso no pierden agua cuando son congelados y deshelados, lo cual incrementa el tiempo de vida útil del alimento; son utilizados como agentes que dan consistencia a los alimentos.

Debido a sus propiedades, el clon de yuca AM206-5 podría encontrar en el futuro un éxito comercial para la producción de almidón ceroso. La caracterización de las propiedades funcionales y el comportamiento de los geles en productos procesados se esta iniciando en CIAT para conocer las ventajas comparativas de este almidón frente a almidones cerosos de otras fuentes.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen CIRAD por las capacitaciones otorgada a Teresa Sánchez en Montpellier, Francia, para capacitarse en análisis de propiedades funcionales y reologicas de almidones, especialmente al Dr Christian Mestres responsable del laboratorio.

BIBLIOGRAFIA

1. Moorthy, S. N. 2004. Tropical sources of starch. In *Starch in Food*; Eliasson, A. C., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL; pp 321-359.
2. Rickard, J. E.; Asaoke, M.; Blanshard, J. M. V. The physico-chemical properties of cassava starch. 1991. *Trop. Sci.*, 31, 189-207.
3. Munyikwa, T. R. I.; Lageveld, S.; Salehuzzaman, S. N. I. M.; Jacobsen, E.; Visser, R. G. F. 1997. Cassava starch biosynthesis: new

Avenues for modifying starch quantity and quality. *Euphytica*, 96, 65-75.

4. Fernandez, A.; Wenham, J.; Dufour, D.; Wheatley, C. C. 1996. The influence of variety and processing on the physicochemical and functional properties of cassava starch and flour. In *Cassava Flour and Starch: Progress in Research and Development*; Dufour, D., O'Brien, G. M., Best R., Eds.; CIRAD/CIAT Montpellier France/ Cali Colombia; pp 263-269.

5. Wheatley C.C.; Orrego, J.I.; Sánchez, T.; Granados, E., Quality evaluation of the cassava core collection at Ciat. 1993. First International Scientific Meeting on Cassava Biotechnology Network, Cartagena de Indias Colombia; pp 255-264

6. Hannah, L. C. 200. Starch biosynthesis and genetic potential. In *Designing Crops for Added Value*; Murphy C. F., Peterson D. M., Eds.; American Society of Agronomy: Madison, WI; pp 181- 199.

7. Watson, S. A. 1988. Corn marketing, processing and utilization. In *Corn and Corn Improvement*, 3rd ed; Sprague, G. F., Dudley, J. W., Eds.; American Society of Agronomy: Madison, WI,; pp 881-940.

8. Prieto, M. L.; Valencia, C. E. 1988. Thesis. Obtención de un método patrón y desarrollo de un método rápido y práctico para la determinación del contenido de humedad en yuca (*Manihot esculenta* Crantz). (Development of a fast method for the determination of the humidity content in yucca.) Universidad del Valle and Universidad Nacional de Colombia, , 101 pp (available at CIAT, Apartado Aereo 6713, Cali. Colombia).

9. *Ash of Flour*; AOAC 923.03, 16th ed; AOAC: Washington, 20., DC, March 1996, p 1.

10. *Fiber (Crude) in Animal Feed and Pet Food*; AOAC 962.09, 16th ed.; AOAC: Washington, DC, March 1996.

11. Cronin, D. A.; Smith, S. 1979. A simple and rapid procedure for the analysis of reducing, total and individual sugars in potatoes. *Potato Res.*, 22 (2), 99-105.

12. Batey, I. L. Starch analysis using thermostable α -amylases. *Starch/Stärke* 1986, 34, 125-128. Modified by Mestres as reported in Mestres, C. Gelification d'amidons de mais modifies thermiquement. Application a la fabrication de pates alimentaires sans gluten. Ph.D. Thesis. France, 1982.

13. Craig, S. A. S.; Maningat, C. C.; Seib, P. A.; Hoseney, R. C. 1989. Starch paste clarity, *Cereal Chem.*, 66 (3), 173-182.

14. Riz: *Determination de la Teneur en Amylose*; ISO 6647 (F), 1987.

15. Mestres, C.; Matencio, F.; Pons, B.; Yajid, M.; Fliedel, G. 1996. A rapid method for the determination of amylose content by using differential scanning calorimetry. *Starch/Stärke*, 48, 2-6.